

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA



**“DETECCIÓN TEMPRANA DEL SÍNDROME DE XYY MEDIANTE LA
CUANTIFICACIÓN DE LA DOSIS GÉNICA DE *SHOX*, *VAMP7* Y *SRY* POR
QPCR EN MUESTRAS DE SANGRE EN PAPEL FILTRO”**

POR:

DRA. IRIS GISELL TIRADO TORRES

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN
GENETICA MÉDICA**

FEBRERO 2018

**“DETECCIÓN TEMPRANA DEL SÍNDROME DE XYY MEDIANTE LA
CUANTIFICACIÓN DE LA DOSIS GÉNICA DE *SHOX*, *VAMP7* Y *SRY* POR
QPCR EN MUESTRAS DE SANGRE EN PAPEL FILTRO”**

Aprobación de tesis:

Dr. med. Luis Daniel Campos Acevedo

Director de Tesis

Dra. Marisol Ibarra Ramírez

Codirector de Tesis

Dra. med. Laura Elia Martínez de Villarreal

Jefe del Departamento de Genética

Dr. med. Felipe Arturo Morales Martínez

Subdirector de Estudios de Posgrado

AGRADECIMIENTOS

A todos los colaboradores del proyecto: Dra. Laura Elia Martínez de Villarreal, Dr. Luis Daniel Campos Acevedo, Dra. Marisol Ibarra Ramírez, QFB José Lugo Trampe, M. en C. Michelle Zamudio, QCB Iris Torres, M. en C. Viviana Gómez Puente, QCB Gloria B. García Castañeda, QFB Carmen Quezada Espinoza, Dra. Isabel Moreno Vega, personal de enfermería del Hospital Universitario y Hospital Regional Materno Infantil de Alta Especialidad y pasantes de Servicio Social en Medicina del Departamento de Genética Facultad de Medicina, UANL.

A mis maestros médicos, químicos y biólogos por fomentar en mí, la curiosidad científica.

A mi familia por apoyarme en cada paso de mi carrera profesional.

A mis compañeras residentes por su paciencia y cariño.

A todo el personal del Departamento de Genética por su excelente disposición para el trabajo en equipo.

CONTENIDO

CAPÍTULO I

1. RESUMEN.....	1
-----------------	---

CAPÍTULO II

2. INTRODUCCION

2.1 Definición del problema.....	2
2.2 Antecedentes	2
2.3 Síndrome XYY.....	4
2.3.1 Epidemiología.....	4
2.3.2 Etiopatogenia.....	5
2.3.4 Cuadro clínico.....	5
2.3.5 Diagnóstico.....	7
2.3.6 Asesoramiento genético.....	7
2.4 Tamizaje neonatal.....	8
2.4.1 Tamiz metabólico ampliado.....	8
2.4.2 Métodos de tamizaje para cromosomopatías.....	9
2.5 Q-PCR.....	10
2.6 Justificación.....	10

CAPÍTULO III

3. HIPÓTESIS

3.1 Hipótesis de investigación.....	12
-------------------------------------	----

3.2 Hipótesis nula.....	12
-------------------------	----

CAPÍTULO IV

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general.....	13
---------------------------	----

4.2 Objetivos específicos.....	13
--------------------------------	----

CAPÍTULO V

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Tipo de estudio.....	14
--------------------------	----

5.2 Universo de estudio.....	14
------------------------------	----

5.3 Criterios de inclusión.....	15
---------------------------------	----

5.4 Criterios de exclusión.....	15
---------------------------------	----

5.5 Criterios de eliminación.....	15
-----------------------------------	----

5.6 Descripción del diseño.....	16
---------------------------------	----

5.6.1 Recolección de la muestra.....	16
--------------------------------------	----

5.6.2 Registro y almacenamiento de la muestra.....	17
--	----

5.6.3 Extracción de ADN automatizada.....	18
5.6.4 Cuantificación y calidad de ADN.....	20
5.6.5 PCR en tiempo real (qPCR).....	21
5.6.6 Determinación de la dosis génica.....	23
5.6.7 Cariotipo.....	25
5.6.8 Asesoramiento.....	27

CAPÍTULO VI

6. RESULTADOS

6.1 Datos Demográficos.....	29
6.2 Resultados del análisis molecular (qPCR).....	29.
6.3 Resultados de análisis citogenético.....	31
6.4 Evaluación Clínica.....	32
6.5 Asesoramiento Genético.....	35

CAPÍTULO VII

7. DISCUSIÓN.....	36
-------------------	----

CAPÍTULO VIII

8. CONCLUSIÓN.....	40
--------------------	----

CAPÍTULO IX

9. ANEXOS

9.1 Carta de consentimiento informado.....	41
--	----

9.2 Hoja de recolección de datos.....	50
---------------------------------------	----

9.3 Carta de Aprobación por el Comité de Ética en Investigación.....	53
--	----

CAPÍTULO X

10. BIBLIOGRAFÍA.....	54
-----------------------	----

CAPÍTULO XI

11. AUTOBIOGRAFÍA.....	59
------------------------	----

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA	PÁGINA
1. Resultados de qPCR	30
2. Datos perinatales de pacientes con dosis génica sugestiva de Síndrome XYY.....	31
3. Datos Clínicos de pacientes con Síndrome XYY.....	34

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
1. Protocolo para extracción de ADN y qPCR en muestras de sangre seca en papel filtro de los sujetos tamizados.....	24
2. Diseño del estudio.....	28
3. Cariotipo bandas G de los pacientes con Síndrome XYY.....	32

CAPÍTULO I

1. RESUMEN

Las aneuploidías de cromosomas sexuales son las aberraciones cromosómicas más comunes en los humanos, dentro de este grupo se encuentra el Síndrome de Turner, la Polisomía del X, el Síndrome de Klinefelter y el Síndrome XYY. Este estudio está dedicado a describir las características clínicas de los pacientes detectados por medio de un programa de tamiz para aneuploidías de cromosomas sexuales. Se trata de un estudio descriptivo, transversal y ciego en neonatos sanos de dos hospitales públicos de los servicios de salud del estado de Nuevo León. Aquellos con dosis génica sugestiva de síndrome XYY fueron remitidos al Departamento de Genética para cariotipo y evaluación clínica. Siete pacientes con dosis génica sugestiva fueron detectados, en 4 de ellos se obtuvo un cariotipo 47,XYY confirmando el diagnóstico, en dos más el cariotipo fue masculino normal (46,XY) y el restante no continuó el protocolo. Los 4 pacientes confirmados mostraron dismorfias menores que no fueron reconocidas hasta después del estudio confirmatorio, como hipertelorismo y micropene, siendo este último una característica no reportada previamente como parte del síndrome. Estas dismorfias menores pueden ser el punto de partida para sospechar Síndrome XYY, lo cual permitiría un diagnóstico temprano, la implementación de un seguimiento personalizado para la búsqueda intencionada de complicaciones relacionadas al mismo lo cual a su vez conduciría a un manejo oportuno que mejore la calidad de vida de cada paciente.

CAPÍTULO II

2. INTRODUCCION

2.1 Definición del problema

Las aneuploidías de los cromosomas sexuales son frecuentes en la población mundial, 1:400 recién nacidos vivos [Nielsen, 1990], sin embargo, su detección al nacimiento es muy baja ya que clínicamente es difícil identificarlos [Lee, et al., 2012; Lubs, et al., 1970]. La identificación temprana de los afectados es vital para el manejo y prevención de complicaciones propias de cada síndrome y así mejorar la calidad de vida de estos []. Ésta problemática puede resolverse por medio de un tamiz capaz de identificar pacientes en riesgo realización del estándar de oro para el diagnóstico, el cariotipo, a través del uso de q-PCR en muestras de papel filtro en un estudio piloto previo fue posible identificar sujetos con una dosis génica anormal para los genes *SRY*, *VAMP7* y *SHOX* a los que se les realizó cariotipo para el diagnóstico definitivo. El presente trabajo se concentra en aquellos con diagnóstico de Síndrome XYY, ya que fue posible identificar características clínicas al nacimiento que permiten expandir el espectro fenotípico de la patología para su diagnóstico temprano.

2.2 Antecedentes

Las anomalías cromosómicas en humanos pueden afectar tanto al número como la estructura de los autosomas o de los cromosomas sexuales [Linder, Bender, Robinson, 2002]. Dentro de las alteraciones estructurales se encuentran las deleciones, duplicaciones, translocaciones, inversiones, anillos, etc. Mientras que las alteraciones numéricas son aquellas en las cuales está afectado el número diploide normal. Dentro de

este rubro se encuentran las aneuploidías, donde el número cromosómico no es múltiplo del número haploide normal humano (23), a su vez pueden dividirse en autosómicas y de cromosomas sexuales, ambas son relevantes por su frecuencia e implicación clínica en los individuos que las presentan.

En cuanto a las aneuploidías de cromosomas sexuales, son tan frecuentes como 1:400 recién nacidos vivos [Nielsen, 1990] y en general no son diagnosticados en la etapa neonatal debido a que las características clínicas son inespecíficas. Dentro de estas anomalías encontramos al Síndrome de Turner, al Síndrome de Klinefelter con sus variantes correspondientes, la Polisomía del X y el Síndrome de XYY.

En general las aneuploidías sexuales no se diagnostican en etapas neonatales, excepto por algunos casos de Síndrome de Turner que presentan el fenotipo clásico [Massa, et al., 2005], es por ello que el diagnóstico de la mayoría de los individuos con aneuploidías de este tipo se realiza en la vida adulta cuando evidencian problemas de fertilidad y/o alteraciones en la talla [Ottensen, et al., 2010; Ross, et al., 2009]. La detección tardía de los individuos afectados tiene un efecto directo sobre la morbilidad ya que retrasa su tratamiento oportuno, así como la identificación y posible prevención de complicaciones relacionadas al síndrome, las cuales incluyen alteraciones endocrinológicas, metabólicas, esqueléticas y/o psiquiátricas, por lo que en algunos casos puede verse disminuida la calidad y la expectativa de vida [Cordeiro, et al., 2012].

El adecuado manejo de las aneuploidías sexuales es una tarea multidisciplinaria por el espectro tan amplio de manifestaciones que pueden encontrarse en los individuos afectados. La detección temprana y el manejo oportuno permitirán al paciente un

adecuado desarrollo e integración social y por consecuencia conllevará al mejoramiento de la calidad de vida y bienestar de la familia en conjunto [Bishop et al., 2010].

2.3 Síndrome XYY

En 1961 se documentó el primer caso de manera incidental en un hombre de 44 años, por el Dr. Avery Sandberg en el Instituto Rosewell Park Memorial, Buffalo, NYC. Posteriormente, se llevaron a cabo numerosos estudios que asociaron la presencia de un cromosoma Y extra en individuos de diversas instituciones mentales y cárceles, por lo que en un inicio se estableció una correlación directa entre el cariotipo 47,XYY y ciertas características como la talla alta y conductas agresivas consideradas como peligrosas [Christensen y Nielsen, 1973]. En 1968, se publicó el primer artículo de revisión sobre el síndrome por Michael Court Brown quien analizó los registros citogenéticos nacionales de cárceles y hospitales psiquiátricos y no encontró un aumento significativo de individuos con síndrome de XYY por lo que reportó que los estudios previamente realizados habían cometido un sesgo de selección y por lo tanto sus conclusiones eran cuestionables.

2.3.1 Epidemiología

El Síndrome XYY es una aneuploidía de cromosomas sexuales con un fenotipo variable causado por la presencia de un cromosoma Y adicional en individuos de sexo masculino que se presenta con una incidencia de uno en 1000 recién nacidos vivos [Bardsley, et al., 2013].

2.3.2 Etiopatogenia

El mecanismo genético por el cual se produce es una no disyunción durante la meiosis II paterna (84%) o durante la mitosis postcigótica (16%) [Skakkebaek, et al., 1973].

2.3.4 Cuadro clínico

Las características físicas de los individuos son difíciles de distinguir del desarrollo normal por lo que alrededor del 85% de los individuos con Síndrome XYY nunca son diagnosticados [Geerts et al., 2003]. Algunas de ellas pueden ser talla alta, volumen testicular aumentado, hipertelorismo, macrocefalia y debido a que no se ha encontrado una asociación clara con una función gonadotrópica anómala estos pacientes cursan con fertilidad normal [Wong, et al., 2008].

La talla suele estar por arriba de la media y en un 15% +2DS superior a la media, el incremento se presenta después de los 6 años [Bardsley, et al., 2013]. Estos pacientes tienen incremento del peso con perímetro abdominal >p90 para la edad (18%), por lo que pueden tener un peso normal con tendencia a acumular grasa abdominal [Milazzo, et al., 2006]. Se ha reportado también hipotonía (63%), macrocefalia (33%), clinodactilia (52%), hipertelorismo (59%), tremor en reposo y/o de intención (43%), problemas dentales (22%) con prognatismo, maloclusión dental y macrodontia, pie plano (52%), macroorquidia postpuberal (42%) y asma (39%) [Christos y Loffeld, 2014; Bardsley, 2013].

A nivel neurológico pueden presentar un incremento en el riesgo de convulsiones (13% comparado con el 1% de la población general), retraso en el lenguaje, dificultades para el aprendizaje por problemas en la fluencia verbal y la lectura [Tartaglia, et al., 2017; Visootsak, et al., 2009]. Así mismo se han reportado malformaciones de la fosa posterior, variaciones anatómicas en regiones relacionadas con el lenguaje y las habilidades motoras, incluyendo la ínsula y los lóbulos frontotemporales con incremento en el volumen de sustancia gris y blanca [Shen, et al., 2004].

En cuanto a las alteraciones psiquiátricas y del comportamiento, es frecuente encontrar impulsividad, trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH) (52%), autismo (29%), ansiedad (26%), depresión (13%), desorden bipolar (8%) y desorden de oposición desafiante (6%) [Visootsak, et al., 2009].

La fertilidad no se ve afectada en el Síndrome XYY, sin embargo, tienen una probabilidad baja de conseguir pareja dado el detrimento de las habilidades sociales que presentan. El eje hipotálamo-hipófisis-gónada se encuentra respetado encontrando valores hormonales normales en la mayoría de los pacientes: testosterona (93%), estradiol (94%), FSH y LH (77%) [Schiavi, et al., 1984]. Existe poca evidencia de un incremento en la incidencia de anormalidades cromosómicas en su descendencia (1-2%), lo cual es sugestivo de un mecanismo de selección en cualquiera de las fases de la meiosis [Rives, et al., 2002; Roeder y Bailis, 2000]. Los mecanismos de selección pueden ocurrir de forma previa a la meiosis, durante paquiteno (al eliminar las células con errores en la sinapsis) o en la metafase de la

meiosis I (al eliminar células con cromosomas univalentes) [Rives, et al., 2003; Nicolson, et al., 1998].

2.3.5 Diagnóstico

El diagnóstico de certeza es mediante un cariotipo en sangre periférica de bandas G, que confirme la aneuploidía. En el periodo prenatal es posible detectar el síndrome de XYY por un cariotipo en líquido amniótico obtenido por amniocentesis, la indicación más frecuente es por edad materna avanzada o marcadores séricos maternos alterados, debido a que no presentan anomalías detectables por medio de ultrasonido obstétrico [Bardsley, et al., 2013]. Sin embargo, el diagnóstico en etapa postnatal por sospecha clínica es raro ya que se realiza cariotipo en la primera década de la vida ante hallazgos inespecíficos como hipotonía, retraso psicomotor, alteraciones del comportamiento, retraso en el lenguaje y talla alta, siendo la mayoría de los pacientes subdiagnosticados.

2.3.6 Asesoramiento genético

La recurrencia en la misma hermandad es rara, por lo que el riesgo en un siguiente embarazo sería menor al 1%. El mecanismo etiopatogénico es por un error de no disyunción en la meiosis II paterna para el cual no se conocen factores de riesgo asociados y no se ve influenciado por la edad paterna [Rives, et al., 2003]. Así mismo los hombres con este síndrome no tienen un riesgo incrementado en la

descendencia para aneuploidías por los mecanismos de selección meiótica ya mencionados.

2.4 Tamizaje neonatal

2.4.1 Tamiz metabólico ampliado

En el año 2012 la Secretaría de Salud federal lanzó el Programa Piloto de Tamizaje Neonatal Ampliado en tres estados de la república, siendo uno de ellos el estado de Nuevo León.

El programa brindó a recién nacidos en nuestro estado la oportunidad de detectar enfermedades metabólicas utilizando pruebas bioquímicas especializadas siendo posible la detección de hasta 39 enfermedades, las cuales presentan sintomatología semanas o incluso años después de su nacimiento generando el riesgo de desarrollar secuelas tan graves como la muerte súbita neonatal o discapacidad intelectual severa. Estas 39 enfermedades están comprendidas en la Norma Oficial Mexicana NOM-034-SSA2-2002 “Para la Prevención y Control de los Defectos al Nacimiento”. En el estado de Nuevo León, todos los recién nacidos automáticamente entran al programa de Tamiz neonatal ampliado el cual consiste en recolectar una muestra de sangre de talón en papel filtro después de las 24 horas y antes de la primera semana de vida. Una vez procesadas las muestras, se evalúan los resultados con valores de referencia establecidos en la población mexicana.

Actualmente diversos países han buscado ampliar el número de enfermedades que pueden ser diagnosticadas a través del uso de muestras de sangre en papel filtro, tal

es el caso de enfermedades de origen genético que pueden ser evaluadas a través de la extracción de ADN de las muestras.

El diagnóstico del síndrome XYY es un buen candidato para realizarse a través de las pruebas de Tamizaje. Otros autores ya han utilizado métodos de análisis molecular para la detección de aneuploidías como la PCR, principalmente para el síndrome de Turner.

2.4.2 Métodos de tamizaje para cromosomopatías

En la literatura existen estudios previos que han estudiado la eficacia de detectar aneuploidías, tanto de cromosomas autosómicos como sexuales, a través de técnicas de biología molecular, especialmente la PCR [Deborah, et al., 2009; Nagy et al., 2015].

La mayoría de estos trabajos están enfocados al asesoramiento prenatal y han utilizado diferentes genes como marcadores, de los cuales es posible conocer su dosis génica para inferir la ausencia o ganancia de un cromosoma específico.

En el Departamento de Genética de Facultad de Medicina y Hospital Universitario, UANL se desarrollaron dos líneas de investigación para éste propósito: el primero validó una técnica para la detección de síndrome de Turner utilizando PCR cuantitativa (qPCR) por medio de la dosis génica de *SHOX* y *VAMP7*, éstos genes se localizan en las regiones pseudoautosómicas de ambos cromosomas sexuales. Posteriormente se diseñó un estudio piloto donde se determinó la dosis génica de *SHOX*, *VAMP7* y *SRY* mediante Q-PCR, por lo que puede detectar aneuploidías de cromosomas sexuales en pacientes fenotípicamente

masculinos y femeninos, en un universo de estudio de 10,000 recién nacidos vivos sanos.

2.5 PCR en tiempo real (qPCR)

El desarrollo de esta técnica de biología molecular ha permitido la cuantificación de cantidades muy pequeñas de secuencias específicas de ácidos nucleicos. Ha sido utilizada en el campo del diagnóstico clínico para medir cargas virales o bacterianas y en enfermedades donde se necesita conocer el estado de la expresión de genes como el cáncer.

El principio básico de la técnica qPCR es la posibilidad de amplificar un segmento específico de ADN como en una PCR convencional con la ventaja de que al mismo tiempo la cuantifica de manera específica éste mismo segmento. Esto es posible dado que, durante la amplificación, la velocidad en que se llega a un nivel determinado de fluorescencia (umbral) se correlaciona con la cantidad de ADN que se tiene en un inicio. Por lo que en cuanto a la determinación de dosis génica, podemos considerar a la qPCR como técnica como un método eficaz que puede automatizarse para su aplicación en pruebas de Tamizaje y por lo tanto ser costo-efectiva.

2.6 Justificación

El Síndrome XYY es una entidad genética subdiagnosticada, debido a que el fenotipo es muy variable y los signos clínicos clave no están presentes desde el nacimiento, por lo que su detección temprana a través de un método de tamizaje neonatal de bajo costo y

confiable permitiría disminuir el impacto de las complicaciones asociadas al síndrome y mejorar la calidad de vida.

CAPÍTULO III

3. HIPÓTESIS

3.1 Hipótesis de investigación

El análisis por Q-PCR de la dosis génica de los genes *SHOX*, *VAMP7* y *SRY* es un método efectivo para el diagnóstico del Síndrome XYY en muestras de sangre capilar de varones recién nacidos en papel filtro.

3.2 Hipótesis nula

El análisis por Q-PCR de la dosis génica de los genes *SHOX*, *VAMP7* y *SRY* no es un método efectivo para el diagnóstico del Síndrome XYY en muestras de sangre capilar de varones recién nacidos en papel filtro.

CAPÍTULO IV

4. Objetivos

4.1 Objetivo general

Evaluar la utilidad de la dosis génica de *SHOX*, *VAMP7* y *SRY* mediante la técnica de q-PCR como método para la detección temprana de pacientes con Síndrome de XYY en muestras de papel filtro de la población neonatal

4.2 Objetivos específicos

- Determinar la cuantificación relativa (RQ) de los *genes SHOX*, *VAMP7* y *SRY* en 5,088 muestras de sangre en papel filtro de neonatos masculinos.
- Analizar la cuantificación relativa (RQ) de acuerdo con los puntos de corte establecidos como normales en neonatos masculinos.
- Realizar Cariotipo bandas GTG con una resolución mínima de 450 bandas en individuos con una dosis génica elevada ($>3DS$) en *SHOX*, *VAMP7* y *SRY*
- Calcular la prevalencia del Síndrome XYY en una población del noreste del país.
- Ofrecer asesoramiento genético a los padres de los individuos que resulten con un cariotipo 47,XYY.

CAPÍTULO V

5. Materiales y métodos

5.1 Tipo de estudio

Se trata de un estudio

- **Descriptivo** que nos permitirá observar la prevalencia del Síndrome XYY en una población del noreste del país.
- **Transversal** debido a que la recolección de muestras se realizó en un periodo comprendido entre marzo de 2014 a agosto de 2015.
- **Ciego** ya que se desconoce si las muestras analizadas son casos o controles.

Este protocolo de estudio también se considera de incidencia ya que permitirá conocer los casos nuevos de la enfermedad en la población estudiada. Los datos obtenidos permitirán el cálculo de tasas de incidencia (Número de casos nuevos de una enfermedad específica en un área y periodo determinado/ Población del área estimada a mitad del periodo *1000).

Cuenta con aprobación del Comité de Ética en Investigación de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario de la Universidad Autónoma de Nuevo León (GN15-007)

5.2 Universo de estudio

Se obtuvieron 10,033 muestras de recién nacidos en dos centros hospitalarios pertenecientes a los servicios de salud del estado de Nuevo León: Hospital

Universitario “Dr. J Eleuterio González” y Hospital Regional Materno Infantil. En cada caso la madre aprobó mediante un consentimiento informado la participación en el estudio para la toma de una muestra adicional al tamiz metabólico ampliado con la misma punción, para la cuantificación de la dosis génica. Aquellos con dosis génica sugestiva de Síndrome de XYY se les realizó la prueba confirmatoria que consiste en un cariotipo bandas GTG. En aquellos con un complemento cromosómico 47,XYY se corroboró el diagnóstico y continuaron la evaluación clínica y el asesoramiento.

5.3 Criterios de inclusión

- Neonatos menores de 2 semanas de vida que hayan nacido en las instalaciones de los servicios de salud del estado de Nuevo León: Hospital Universitario “Dr. J Eleuterio González” y Hospital Regional Materno Infantil.

5.4 Criterios de exclusión

- Neonatos transfundidos
- Imposibilidad para tomar la muestra

5.5 Criterios de eliminación

- Muestra inadecuada.
- Rechazo de los tutores a firmar consentimiento informado al inicio.

- Rechaza continuar dentro del protocolo de investigación en alguna de sus fases.

5.6 Descripción del diseño

El estudio contempla un proceso estandarizado para la recolección y procesamiento de muestras de sangre en papel filtro donde se analizará la cuantificación relativa de los siguientes genes para inferir el número de cromosomas sexuales presentes en un individuo (Figura 2):

- *SHOX* (gen short-sature homeobox) localizado en Xp22.32 en la región pseudoautosómica 1 o también conocida como PAR1
- *VAMP7* (gen vesicle-associated membrane protein 7) localizado en Xq28 en la región pseudoautosómica 2 (PAR2)
- *SRY* (Sex-determining región Y) gen determinante del sexo que se encuentra en el cromosoma Y.

5.6.1 Recolección de la muestra

Se invitó a participar a las madres de neonatos que se encontraran en los servicios de Obstetricia y Pediatría del Hospital Universitario, así como del Hospital Regional Materno Infantil ambos pertenecientes a los servicios de salud del Estado de Nuevo León y que cumplieron con los criterios de inclusión, en un periodo de tiempo específico.

Se les explicó el objetivo principal del protocolo de estudio y las implicaciones generales del diagnóstico de aneuploidías de cromosomas sexuales. Una vez que los tutores autorizaron su participación en el estudio mediante la firma del consentimiento informado correspondiente, se procedió a la toma de muestra en el papel filtro ELUTE Micro Card Whatman™ al neonato a partir de sangre capilar del talón al mismo tiempo que se realiza la toma de muestra para el tamiz neonatal ampliado, para evitar una punción adicional.

Se recolectaron un total de 10,033 muestras de las cuales 4945 correspondieron a neonatos fenotípicamente femeninos y 5088 fenotípicamente masculinos.

5.6.2 Registro y almacenamiento de la muestra

Las muestras recolectadas en papel filtro secas se transportaron el mismo día que fueron tomadas al Departamento de Genética de Facultad de Medicina y Hospital Universitario, UANL, donde se registraron con una clave específica del protocolo (GEP) y el número consecutivo correspondiente de acuerdo con su llegada al laboratorio. Durante su almacenamiento se mantuvieron a una temperatura ambiente de 22°C y 40 % de humedad aproximadamente, la constitución del papel filtro permite la correcta conservación del ADN hasta por 15 años, impide la proliferación de bacterias u hongos, protege al ADN de degradaciones debidas al entorno, reduce la posibilidad de contaminación cruzada entre las muestras y elimina las fuerzas de cizallamiento asociadas a los métodos de extracción convencional.

5.6.3 Extracción automatizada de ADN

Las muestras se procesaron en el equipo QIAcube de la marca QIAGEN, haciendo uso del estuche QIAamp® ADN Investigator. El equipo realiza una lisis de la muestra en condiciones desnaturalizantes con proteinasa K, posteriormente el ADN se une a la membrana de sílice y mediante una serie de lavados se eliminarán todos los contaminantes, obteniendo así una correcta purificación y extracción del ADN (Figura 1).

Equipo

QIAcube® QIAGEN

Reactivos

QIA amp® ADN Investigator

Material

Tubos CB (2mL) especiales para QIAcube

Tubos de elución de 1.5mL

Micropipeta de 20-200uL

Puntas con filtro, 200 µL especiales para QIAcube

Puntas con filtro, 1000 µL especiales para QIAcube

Adaptadores del Rotor

Porta adaptadores del Rotor

Metodología

Partiendo de una muestra de sangre completa impregnada en papel filtro

1. Se toman 4 perforaciones de 3mm cada una y se incluyeron en los tubos CB previamente rotulados con el número de identificación correspondiente.
2. Se colocaron dentro del QIAcube los tubos CB con las muestras.
3. Se colocó en el equipo el rack con las puntas indicadas, tubos de elusión y los reactivos de acuerdo con el manual del fabricante
4. Se encendió el QIAcube y se seleccionó la aplicación “ADN” en la pantalla del menú principal.
5. Se eligió el nombre del kit, el tipo de muestra, así como el protocolo, en la pantalla del equipo oprimiendo “Select” en cada paso.
6. Se inició la corrida del protocolo al presionar “Start”
7. El equipo realizó una revisión del sistema (muestras, insumos y reactivos correctos y suficientes), al terminar cada paso se oprimió la opción “continuar”.
8. Después de verificar el material en la revisión automatizada, se procedió a realizar la extracción

9. Al terminar la corrida, se retiraron los tubos que contienen el ADN purificado de cada muestra para su cuantificación.

5.6.4 Cuantificación y calidad de ADN

Para garantizar la confiabilidad de la prueba de dosis génica, el ADN extraído debe cumplir estándares de cantidad y calidad de cada muestra. La estimación de la calidad del ADN es obtenida por la relación de absorbancia 260/280, la cual debe ser mayor o igual a 1.8 y menor de 2.0 (Valores superiores o inferiores indican contaminación de la muestra, ya sea por proteínas (260/280), sales o solvente (260/230). La evaluación y cuantificación se realizó en el espectrómetro NanoDrop™8000 Thermo Fisher™

Equipo

- NanoDrop ND-1000
- Micropipeta de 10uL

Reactivos

- Agua libre de nucleasas
- Muestras de ADN

Material

- Puntas con filtro (10 µL)
- Toallas absorbentes Kimwipes

Metodología

1. Se inició el software del equipo.
2. Se indicó el tipo de cuantificación (Ácidos nucleicos/ADN o ARN)
3. Se limpió la zona en donde se coloca la muestra con un papel libre de polvo
4. Se colocó 1 μL del buffer y se designó como “Blank” en el equipo
5. El equipo midió la concentración del estándar con una concentración conocida para verificar el funcionamiento correcto del equipo (calibración)
6. Se limpió nuevamente la zona en donde se coloca la muestra con un papel libre de polvo.
7. Posteriormente se agregó 1 μL del ADN para iniciar la cuantificación en $\text{ng}/\mu\text{L}$ de ADN y la calidad mediante las lecturas de absorbancia.
8. Y al finalizar se presionó el botón “Exit”

5.6.5 PCR en tiempo real (qPCR)

Se corren de forma simultánea los ensayos TaqMan®Copy Number y el TaqMan®Copy Number Reference en una PCR doble. El primero detecta el gen blanco o la secuencia genómica de interés mientras que el segundo detecta una secuencia que se sabe que existe en dos copias en un genoma diploide (RNase P).

El número de copias de la secuencia blanco en cada muestra se determina por cuantificación relativa (RQ) usando el método comparativo C_T ($\Delta\Delta C_T$). Este método mide la diferencia de C_T (ΔC_T) entre el gen de interés y la secuencia del gen de referencia y compara el valor de DCT de la muestra con el calibrador

conocido que tiene dos copias de la secuencia. Por lo tanto, el número de copias del gen de interés puede ser calculado.

Al terminar la PCR, los archivos que contienen los valores de CT de cada muestra son exportados al software del equipo para el análisis de los datos post-PCR en experimentos de cuantificación de número de copias.

Equipo

StepOnePlus™ System

Reactivos

TaqMan® Copy Number Assay

TaqMan® Copy Number Reference Assay RNase P

TaqMan® Genotyping Master Mix

Agua libre de nucleasas

Materiales

1. MicroAmp® Fast optical 96-Well Reaction Plate
2. MicroAmp® Optical Adhesive Film
3. Puntillas con filtro (10-200 µL)
4. Guantes sin polvo
5. Tubos Eppendorf (0.2-0.5mL)

Metodología

Se realizó una PCR en tiempo real (q-PCR) con el equipo StepOnePlus™ (Life Technologies). La preparación de cada muestra para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se llevó a cabo de la siguiente manera: 5 µL de ADN a una concentración de 5ng/ µL, a los cuales se les agregó 4 µL del reactivo del estuche comercial 2X TaqMan® Genotyping Master Mix (Life Technologies, CA, United States), 0.5 µL de TaqMan® Copy Number Assays (Life Technologies) el cual ya contiene ambos oligonucleótidos y la sonda específica para la amplificación y detección de cada uno de los genes *SHOX*, *VAMP7* y *SRY*. También se agregó la sonda TaqMan VIC-labeled para la detección del gen de referencia RNaseP. Las muestras serán colocadas en una placa a MicroAmp Fast Optical 96-Well Reaction (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

El programa de amplificación consta de las siguientes etapas:

- Inicia a 95°C durante 10 minutos
- Seguido de 45 ciclos de 20 segundos a 95°C y,
- Finalmente, un minuto a 60°C.

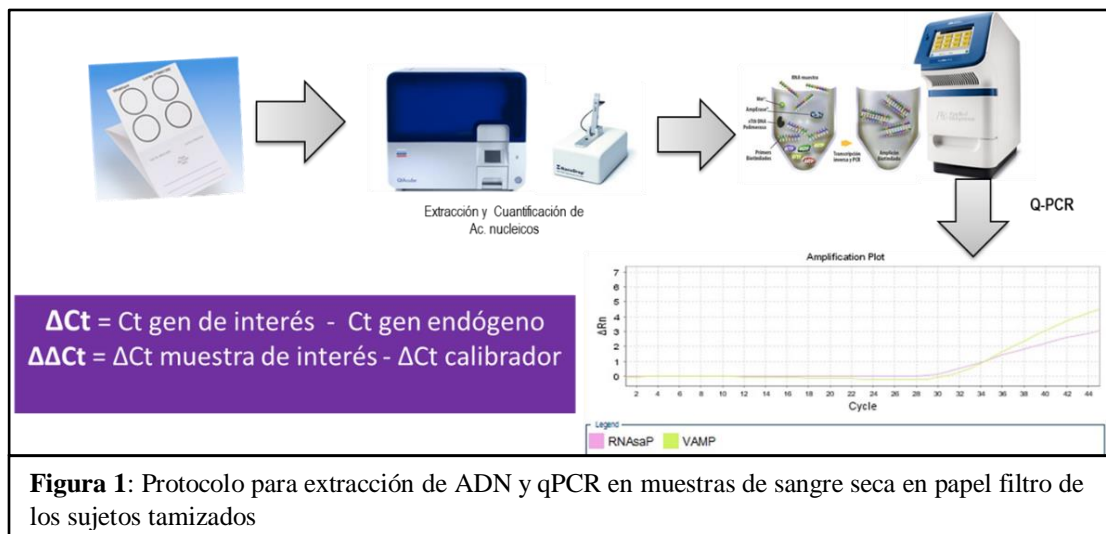
Al terminar la q-PCR los resultados serán analizados en el software del equipo (Step One Plus de Applied Biosystem®).

5.6.6 Determinación de la dosis génica

El estudio se basa en el análisis molecular de la cuantificación de la dosis génica a través del uso de la q-PCR, realizando una cuantificación relativa con el método delta-delta-CT, la cual permite a través del uso de un gen de referencia endógeno establecer la dosis génica de un gen de un estudio determinado.

La cuantificación relativa determinada por el método delta-delta-CT el cual mide la diferencia de CT (delta-CT) entre el gen de interés (*SHOX*, *VAMP7* y *SRY*) contra la secuencia del gen de referencia (*RNaseP*). La cuantificación relativa (RQ) normal en un individuo con dos alelos para un gen es igual a 1 ya que es una proporción entre el numero normal de copias del gen de estudio y el numero normal de copias del gen de referencia es decir $2/2=1$ y al existir una pérdida o ganancia en el número de cromosomas sexuales se verá reflejado en un aumento o disminución del valor de RQ. Las ganancias son relevantes para este protocolo de estudio ya que se traducen como un aumento en el número de copias de los genes de interés. Los individuos que presenten una alteración en el número de cromosomas sexuales, específicamente la presencia de un cromosoma X con dos cromosomas Y que constituyen el síndrome a estudiar, mostrarán una dosis génica alterada de los genes localizados en las regiones pseudoautosómicas.

Por lo tanto, en el síndrome XYY esperamos encontrar una cuantificación relativa de los tres genes >3DS (*SRY*, *SHOX* y *VAMP7*). Al azar, se integrarán 8 muestras en papel filtro con sangre de pacientes previamente diagnosticados con Síndrome XYY (controles positivos), esto será para determinar los límites superior e inferior de detección (Figura 1).



5.6.7 Cariotipo

Todas las muestras con perfil sugestivo de Síndrome XYY fueron localizados para la obtención de una muestra de sangre periférica (2cc) para el estudio citogenético confirmatorio.

El estudio citogenético se basa en el cultivo de células, principalmente linfocitos en sangre periférica para la obtención de metafases en las que se analiza tanto el número como la estructura de los cromosomas, mediante la técnica de tinción GTG donde se utiliza Tripsina y Giemsa como colorante, lo que permite observar un patrón de bandeo característico de cada par de cromosomas de bandas claras y oscuras, el cual ya está establecido y descrito en el ISCN 2016.

La sangre periférica es el tejido más usado para determinar el cariotipo constitucional de un individuo, la muestra para cariotipo consiste en 1 a 3 ml de sangre venosa periférica obtenida mediante técnica aséptica. Para la toma de la muestra no es necesario el ayuno, sin embargo, el paciente no debe estar en tratamiento médico con antibióticos ni haber sido sometido a transfusiones sanguíneas en por lo menos tres meses previos. Normalmente los linfocitos de sangre periférica no se dividen en adultos sanos, por lo que tienen que ser estimulados con exposición de mitógenos como la fitohemaglutinina para obtener un cultivo celular adecuado.

El proceso para obtener los cromosomas en metafase consistirá en:

1. Cultivo celular: Se adicionan 0.5 mL de sangre periférica a dos tubos identificados como A y B de 10 mL de volumen total que ya contienen 8mL

un medio de cultivo estándar enriquecido con suero fetal bovino, fitohemaglutinina y antibióticos (PB-MAX®), los tubos permanecerán en una incubadora con control de temperatura y gases durante 72 horas a 37°C y con 5% de CO₂

2. Cosecha: una vez cumplidas las 72 horas para la obtención de metafases se adicionó 100 microlitros a cada tubo de un inhibidor del huso mitótico (Colcemid®) y se dejó en la incubadora durante 40 minutos más. Posteriormente se centrifugan ambos tubos durante 10 min a 2500 rpm y al finalizar se descarta el sobrenadante y se agregan 5mL de solución hipotónica (Cloruro de potasio) para ingresarlos nuevamente a la incubadora durante 30 min. En seguida se agrega una prefijación con 10 gotas de solución fijadora, y se centrifuga nuevamente por 10 minutos más. Después de la prefijación las muestras se someten a lavados con solución fijadora, aproximadamente tres, hasta obtener un botón celular adecuado.
3. Goteo de laminillas: se limpian con solución fijadora previamente los portaobjetos que se utilizarán para montar las laminillas, son 6 por cada muestra de paciente (3 por cada tubo de cultivo celular). En un ambiente controlado de 22°C y 40% de humedad se dejan caer dos gotas en cada laminilla a una distancia de aproximadamente 40cm para permitir que el esparcimiento de las metafases. Se observan en el microscopio de contraste de fases para identificar si efectivamente hay metafases para su análisis antes de la tinción propiamente.
4. Tinción: Se prepara un tren de tinción con 5 jarras coplin, la primera contiene Buffer 7.8 con tripsina, la segunda Buffer 6.8, la tercera colorante Wright, la

cuarta colorante Giemsa y la última agua destilada para enjuagar. Una vez teñidas son introducidas en una estufa a 37°C para la fase de secado y maduración durante 48 hrs. Finalmente se coloca un cubreobjetos sobre la preparación teñida con medio de montaje Entellan®.

5. Análisis de las muestras: Se observaron en el microscopio de luz las preparaciones bandeadas y para detectar cambios tanto en el número como en la estructura de los cromosomas, cada cromosoma se compara críticamente banda por banda con su homóloga. Se observaron y contaron al menos 20 metafases y fueron cariotipadas dos de ellas para su registro e informe final.

5.6.8 Asesoramiento

Los pacientes con diagnóstico confirmado de Síndrome XYY (cariotipo 47,XYY), fueron localizados para una consulta en el Departamento de Genética de Facultad de Medicina y Hospital Universitario, donde se les informó el resultado de la prueba y se realizó una evaluación clínica completa del paciente, que incluyó historia clínica, árbol genealógico y exploración física con somatometría.

Se les dio información en lenguaje sencillo y comprensible acerca del Síndrome XYY principalmente sobre la historia natural de la enfermedad, sus complicaciones y posibles estrategias de prevención.

Debido a que el mecanismo fisiopatogénico que produce el Síndrome de XYY se debe principalmente a una no disyunción durante la meiosis II paterna, se sabe que

el riesgo de recurrencia en un siguiente embarazo es bajo, y este riesgo se expresó en forma de porcentaje como $<1\%$.

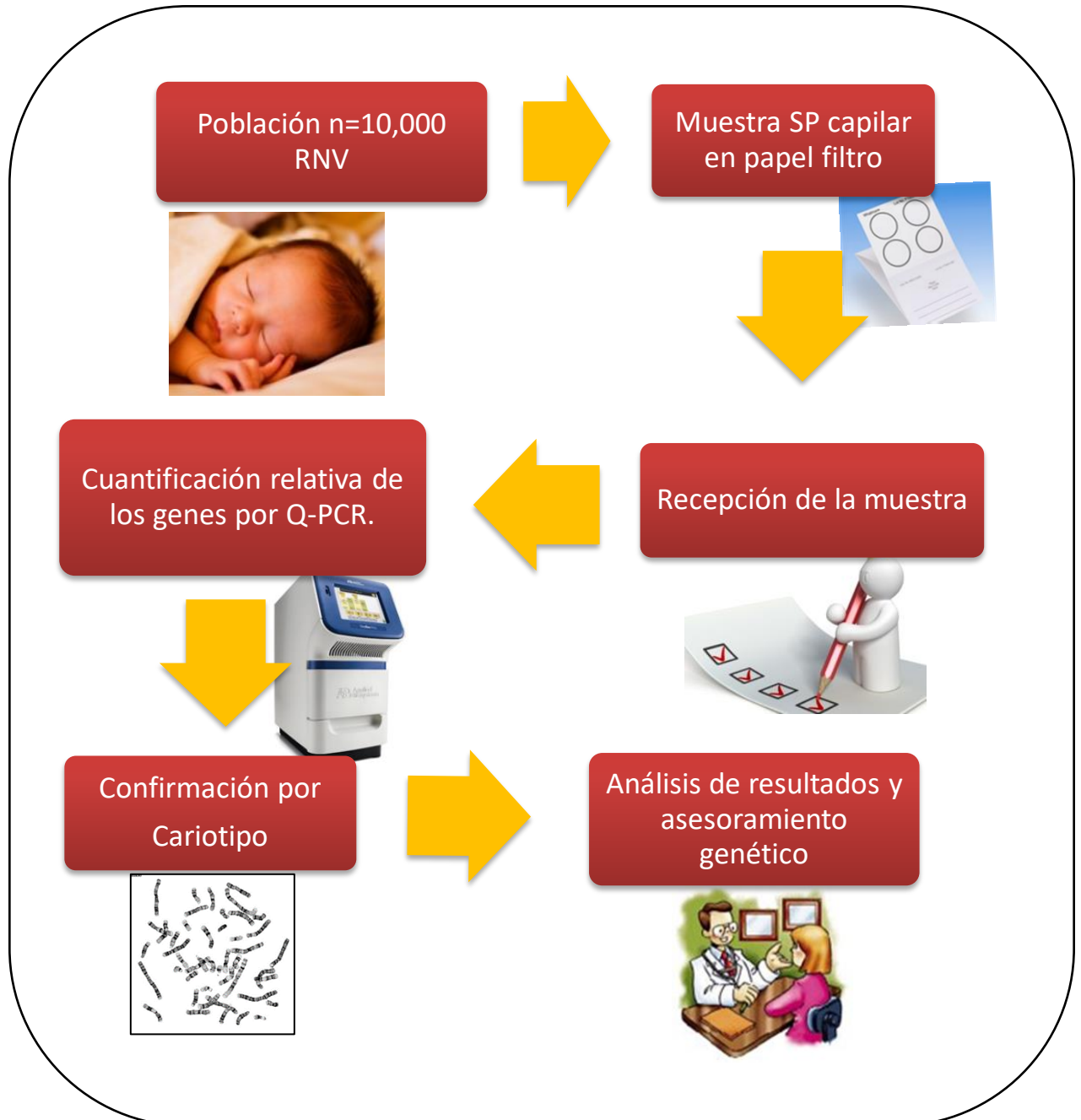


Figura 2. Diseño del estudio.

CAPÍTULO VI

6. RESULTADOS

6.1 Datos demográficos

Este protocolo de tesis tiene como antecedente un proyecto previo titulado: “Detección temprana de las aneuploidías de cromosomas sexuales a través de la cuantificación de la dosis génica por q-PCR en muestras de sangre en papel filtro para tamiz neonatal ampliado” con registro de comité de ética GN13-002, el cual inició la recolección de las muestras desde el 1 de mayo de 2014 y finalizó el 31 de enero de 2016.

En este periodo se recolectaron 10,033 muestras en papel filtro de sangre del talón de neonatos nacidos en los servicios de salud del Estado de Nuevo León. De acuerdo con el género asignado al nacimiento, 4,945 fueron de sujetos de sexo femenino (49.28%) y 5,088 sujetos fueron de sexo masculino (50.71%).

6.2 Resultados del análisis molecular (qPCR)

La determinación de la dosis génica por qPCR se realizó para cada placa, es decir que cada muestra fue también una referencia. No era posible saber cuáles correspondían a dosis génicas normales o anormales, lo esperado era que la mayoría de las muestras correspondieran a individuos con dosis génicas normales.

Los productos de amplificación de una secuencia específica se observan cuando una sonda hibrida la región en cuestión y se detecta al reportero fluorescente conforme transcurren los ciclos de PCR. El equipo arroja una gráfica de amplificación y el software hace el comparativo CT (delta-CT) para obtener la cuantificación relativa. Posteriormente se resta

al valor delta-CT el de RNaseP y con este valor se clasifico como “perdida”, “ganancia” o “normal”. De acuerdo a los resultados para los genes se estableció un valor de $RQ > 1.3$ como una ganancia, mientras que un $RQ < 0.7$ se consideró como “perdida” y los valores intermedios de estos dos como “normales” (Tabla 1).

Paciente	RQ (>3DS)			Perfil de Aneuploidía
	<i>SHOX</i>	<i>VAMP7</i>	<i>SRY</i>	
1	1.54	1.40	1.66	
	1.41	1.44	1.72	Sd XYY
2	1.84	1.66	1.67	
	1.54	1.68	1.59	Sd XYY
3	1.71	1.56	1.80	
	1.33	1.55	1.69	Sd XYY
4	1.36	1.67	1.56	
	1.64	1.63	2.17	Sd XYY
5	1.26	1.31	1.65	
	1.32	1.23	1.70	Sd XYY
6	1.48	1.18	1.51	
	1.51	1.69	1.53	Sd XYY
7	1.40	1.22	1.52	
	1.80	1.55	2.07	Sd XYY

Tabla 1. Resultados de qPCR. Se muestra la dosis génica de cada paciente obtenido en un análisis por duplicado.

Se recabaron los datos perinatales de los pacientes con perfil sugestivo de Síndrome de XYY (Tabla 2)

	Edad materna (años)	Edad paterna (años)	Paridad	Control prenatal	Capurro (sdg)	Peso	Talla	PC	Apgar
1	18	21	G1 P1	Normal	37	2370g	47	32	8/9
2	19	22	G2 P2	Normal	34.6	2780g	48	33	8/9
3	20	31	G4 P3 A1	Normal	38	3700g	53	31	8/9
4	26	31	G2 P2	AA 1er mes	40	3380g	51	33	8/9
5	18	21	G2 P2	Normal	38	3660g	43	34	8/9
6	29	32	G4 P2 A1 C1	Placenta previa	37	3360g	50cm	36	8/9
7	18	No referida	G1 P1	Normal	37.5	2760	49	32	8/9
Tabla 2. Datos perinatales de los pacientes con dosis génica sugestiva de Síndrome XYY. AA: amenaza de aborto, PC: perímetro cefálico, sdg: semanas de gestación.									

6.3 Resultados de Análisis Citogenético

Los pacientes con dosis génica sugestiva de Síndrome XYY fueron 7, de los cuales: 4 se confirmaron por medio de Cariotipo (47,XYY), 2 pacientes resultaron falsos positivos ya que se obtuvo un cariotipo normal (46,XY) y finalmente uno de los pacientes no pudo ser localizado por lo que no concluyó el estudio (Figura 3).

De acuerdo con los hallazgos en la población estudiada se calcula una incidencia para el síndrome de XYY de 1 por cada 1,272 recién nacidos vivos, lo cual se asemeja mucho a lo reportado previamente en la literatura que es 1 en 1,000 recién nacidos.

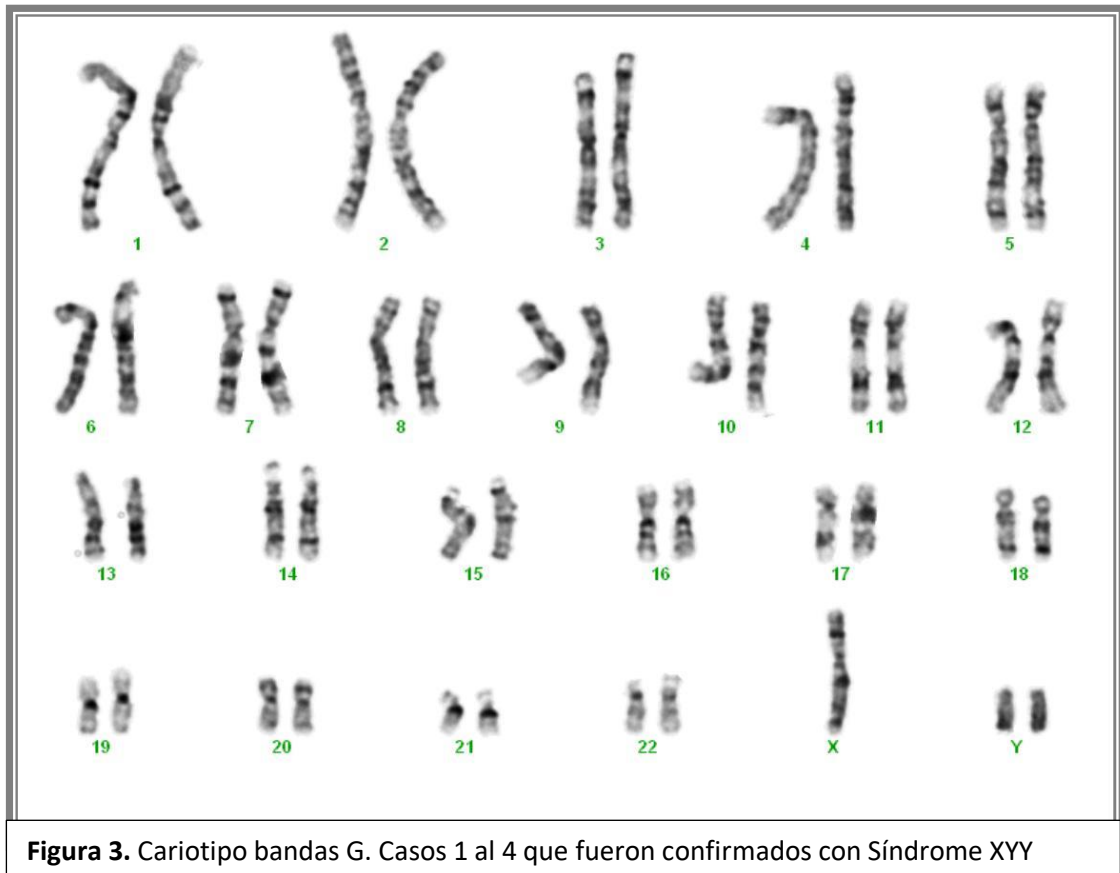


Figura 3. Cariotipo bandas G. Casos 1 al 4 que fueron confirmados con Síndrome XYY

6.4 Evaluación Clínica

La evaluación se llevó a cabo una vez confirmado el diagnóstico con árbol genealógico, historia clínica y exploración física completa con somatometría (Tabla 3).

Caso 1

Masculino de 7 meses de edad, producto de la primera gesta de padres aparentemente sanos y no consanguíneos, madre de 18 años y padre de 21, sin antecedentes familiares relevantes. Embarazo aparentemente normoevolutivo, control ultrasonográfico normal. Nace a las 37 sdg vía parto eutócico, con Apgar 8/9, tono muscular adecuado, a la exploración física presenta hipertelorismo (distancia interpupilar 6 cm >p97), criptorquidia bilateral, así como micropene (2cm desde su base <p3). En una segunda evaluación a los 13 meses de edad: peso 11.2 Kg (p75-90), talla 76 cm (p25-50) y PC 49 cm (p90), los hitos del desarrollo fueron adecuados, sin embargo continúa con la criptorquidia por lo que se refiere para manejo por cirugía pediátrica. La longitud del pene fue de 4.5 cm (p50), la cual era normal.

Caso 2

Masculino de 8 meses de edad, producto de la segunda gesta de madre de 19 años y padre de 22 años, ambos aparentemente sanos y no consanguíneos, embarazo de alto riesgo por detección de quiste ovárico con seguimiento ultrasonográfico estrecho, los reportes del desarrollo fetal fueron normales. Nace a las 34.6 sdg por ruptura prematura de membranas, se obtiene vía vaginal sin complicaciones, con Apgar 8/9 y tono muscular adecuado por lo que egresa el binomio como sano. A la exploración física peso 8.6 Kg (p50), talla 70 cm (p75), PC 45 cm (p25), longitud del pene 3.5 cm (p50), distancia intercantal interna 3 cm ().

Caso 3

Masculino de 5 meses de edad producto de la cuarta gesta de madre de 20 años y padre de 31 años. La primera gesta fue un aborto de primer trimestre espontaneo, no estudiado, la gesta 2 y 3 son aparentemente sanos. Se trató de un embarazo normoevolutivo con control ultrasonográfico normal. Nace a las 38 sdg vía parto eutócico con Apgar 8/9, recibe maniobras básicas de reanimación con buena adaptación al medio por lo que egresa el binomio como sano.

Caso 4

Masculino de 4 meses de edad, producto de la segunda de gesta de madre de 26 años y padre de 31, ambos aparentemente sanos y no consanguíneos. La madre refiere amenaza de aborto en el primer trimestre sin tratamiento médico, únicamente reposo. Control ultrasonográfico normal, nace a las 40 sdg, vía parto eutócico con Apgar 8/9, buena adaptación al medio y egresa el binomio como sano. A la exploración física 6.9 Kg (p50-75), talla 66.5 cm (p75), PC 41cm (p25), distancia interpupilar 2.8 cm (p), pene 2.5 cm (<p3). En una segunda evaluación a los 6 meses peso 8 Kg y talla 67.5 cm

P	Edad	Peso	Talla	PC	Hipertelorismo	Micropene	Hipotonía	ND
1	7m	10.1	69	46.5	6 cm (>p97)	2 cm	No	NL
2	8m	8.6	70	45.5	5.3 cm (>p97)	3.5 cm	No	NL
3	5 m	7.6	66	44	4.8 cm (p97)	2.5 cm	No	NL
4	4m	6.9	66.5	41	5.5 cm (>p97)	2.5 cm	No	NL

Tabla 3. Datos Clínicos de los pacientes con Síndrome XYY. ND: neurodesarrollo, PC: perímetro cefálico

6.5 Asesoramiento Genético

En cada caso se asesoró como un evento esporádico con un riesgo de recurrencia para un siguiente embarazo de 1%.

CAPÍTULO VII

7. DISCUSIÓN

La identificación temprana de enfermedades crónicas permite disminuir riesgos de morbi-mortalidad importantes, existen modelos de programas de tamiz que buscan prevenir algunas enfermedades como los errores innatos del metabolismo donde la intervención oportuna con dieta personalizada disminuye el riesgo de muerte temprana como complicación aguda y discapacidad intelectual a largo plazo de una manera costo-efectiva. El diseño de una prueba de tamizaje responde a las necesidades de una población específica, y debe cumplir con los siguientes criterios [Wilson y Junger, 1968]:

1. La enfermedad que detecta debe ser un problema de salud importante en la población
2. Debe existir un tratamiento aceptado para los pacientes con la enfermedad
3. Las pruebas diagnósticas y de tratamiento deben ser de fácil acceso
4. Existe una etapa de latencia o temprana sintomática de la enfermedad
5. Existe una prueba diagnóstica idónea para la enfermedad
6. La prueba debe ser adecuada para la población
7. Debe estar bien comprendida la historia natural de la enfermedad
8. Debe existir una estrategia consensuada sobre a que pacientes se debe tratar
9. El costo de la detección de un caso junto con su tratamiento debe estar balanceado en relación con los posibles gastos del cuidado médico de la enfermedad

10. La detección de casos debe ser un proceso al que se le dé continuidad y no un proyecto único.

De acuerdo con lo anterior, las aneuploidías de los cromosomas sexuales son un grupo de enfermedades susceptibles de ser consideradas como candidatas a un programa de tamiz ya que su diagnóstico clínico es generalmente tardío, ocasionan morbilidad a lo largo de la vida altamente prevenible, es decir, que existen estrategias de intervención temprana disponibles para aminorar las posibles complicaciones y las pruebas de tamizaje para su identificación como la que se propone en el presente trabajo es rápida y costo-efectiva si se aplica a nivel poblacional.

Existen antecedentes en la literatura de métodos de detección para aneuploidías de cromosomas sexuales, especialmente para el síndrome de Turner, por ejemplo: V. Cirigliano et al, desarrollaron un método por PCR cuantitativa para calcular la dosis génica de cromosoma X de forma prenatal en 2002. Posteriormente en 2005, Rocha et al. Presentan una estrategia de detección para el mismo síndrome de forma neonatal a partir de muestras en papel filtro como parte de un tamiz neonatal. De forma posterior, trasladan la aplicación del principio de la dosis génica y a la qPCR como prueba idónea para el tamizaje de otras patologías de cromosomas sexuales como el síndrome de Klinefelter (47,XXY) [Aksglaede, et al. 2012].

En nuestro país, existen dos trabajos sobresalientes respecto de la implementación de qPCR como un método de tamizaje confiable para el estudio de aneuploidías de cromosomas sexuales, uno de ellos primeramente establece 2 genes como marcadores en el síndrome de Turner [M. Ibarra-Ramírez, et al. 2015] y el segundo establece puntos de corte para la dosis génica de los genes *SHOX*, *VAMP7* y *SRY* en pacientes con aneuploidías

de cromosomas sexuales: Síndrome de Turner, Polisomía del X, Síndrome de Klinefelter y Síndrome de XYY [L. D. Campos-Acevedo, et al. 2016].

El Síndrome de XYY es una aneuploidía que se produce por una no disyunción paterna durante la meiosis II, este mecanismo condiciona que se considere como un evento aleatorio y hasta el momento no se conoce ningún factor de riesgo asociado a la presentación de esta aneuploidía, lo cual coincide con nuestros casos ya que no encontramos ningún factor de riesgo que compartan los pacientes, todos ellos fueron productos de embarazos espontaneo de padres jóvenes, sin antecedentes heredofamiliares o personales patológicos relevantes.

Las características físicas de los individuos son difíciles de distinguir del desarrollo normal por lo que alrededor del 85% de los individuos con Síndrome XYY nunca son diagnosticados. La talla suele estar por arriba de la media y en un 15% +2DS superior a la media, el incremento se presenta después de los 6 años, por lo cual este dato no puede ser detectado al nacimiento. Estos pacientes tienen incremento del peso con perímetro abdominal >p90 para la edad (18%), por lo que pueden tener un peso normal con tendencia a acumular grasa abdominal y generalmente se presenta alrededor de los 6 años. Se ha reportado también hipotonía (63%), macrocefalia (33%), clinodactilia (52%), hipertelorismo (59%), tremor en reposo y/o de intención (43%), problemas dentales (22%) con prognatismo, maloclusión dental y macrodontia, pie plano (52%), macroorquidia postpuberal (42%) y asma (39%). De estas características fue posible identificar en los pacientes talla alta (25%), macrocefalia (25%), hipertelorismo (75%) y micropene (50%), siendo éstas dos últimas características las más frecuentes, por lo que ante su presencia en un paciente se debe realizar iniciar su abordaje por un posible Síndrome de XYY.

La detección temprana de individuos con síndrome de XYY resulta de gran importancia ya que permite establecer un diagnóstico específico y de forma subsecuente ofrecer un seguimiento personalizado para la prevención de complicaciones relacionadas al síndrome ya que la intervención temprana disminuye el riesgo de morbilidad lo que permite una mejor calidad de vida en el paciente y su familia.

CAPÍTULO VIII

8. CONCLUSIÓN

La determinación de la dosis génica de los genes *SHOX*, *VAMP7* y *SRY* por q-PCR es un método efectivo para el diagnóstico de Síndrome de XYY. Esta metodología permitió la detección de 4 pacientes con el síndrome a través de muestras de sangre en papel filtro en una población neonatal, obteniendo la incidencia del síndrome y la caracterización del fenotipo durante el primer año de vida. Lo cual se encuentra poco descrito en la literatura.

Con esta serie de casos de Síndrome XYY se demuestra la necesidad de una evaluación cuidadosa en el recién nacido, ya que todos los pacientes mostraron dismorfias menores que podrían alertar al médico a sospechar una posible entidad cromosómica. Se puede reconocer que la evaluación clínica a este nivel es difícil ya que los datos clínicos encontrados son inespecíficos, pero puede continuar su evaluación con un médico genetista que ayude a descartar estas entidades cromosómicas.

Dada la dificultad de la sospecha clínica, es recomendable la aplicación de un programa de tamiz neonatal para aneuploidías de cromosomas sexuales para su identificación temprana, lo cual mejoraría el manejo, la vigilancia y el tratamiento de posibles comorbilidades que afectan directamente en el desarrollo y la calidad de vida de cada paciente.

CAPÍTULO IX

9. ANEXOS

9.1 Carta de consentimiento informado



CONSENTIMIENTO INFORMADO

1.- CONSENTIMIENTO INFORMADO

Detección temprana de síndrome de XYY mediante la cuantificación de la dosis génica de SHOX, VAMP7 y SRY por qPCR en muestras de sangre de papel filtro.

1.- Usted ha sido invitado (a) a participar en este estudio de investigación. Este documento tiene toda la información sobre este estudio. Tómese el tiempo necesario para que lo lea y haga cualquier pregunta que pudiera tener a su médico o personal del estudio de investigación.

2.- LOS INVESTIGADORES

Los responsables de este estudio son: Dra. Med. Laura Elia Martínez Garza, jefe del departamento de Genética de la Facultad de Medicina de la U.A.N.L. Dr. Luis Daniel Campos Acevedo médico especialista en Genética Médica, profesor adscrito al departamento de Genética y coordinador del laboratorio de genética molecular, Dra. Iris Gisell Tirado Torres Médico Residente de Genética, Dra. Marisol Ibarra Ramírez profesor y médico adscrito al departamento de Genética, M.C. Michelle Zamudio Osuna profesor e investigador en el área de genética molecular, M.C. Viviana Gómez Puente profesor adscrito al departamento de Genética y coordinador del laboratorio de Citogenética, QCB Rosario Torres profesor adscrito al departamento de Genética y coordinador del laboratorio de Genética Bioquímica, Dra. Patricia Arredondo Coordinadora del departamento de Atención a la Salud del Recién Nacido, Infancia y Adolescencia, SSNL. Dr. Ricardo Cerda Flores profesor-Investigador de la Facultad de Enfermería. El Departamento de Genética se localiza en el 4° piso del Centro Universitario Contra el Cáncer y se puede comunicar a los Tel. (81) 83 48 37 04, (81) 81 23 16 98 de lunes a viernes en horarios de 8:00 a 19:00 hrs.

3.- ACERCA DE ESTE ESTUDIO.

Las aneuploidías sexuales son alteraciones en el número de cromosomas sexuales (X o Y) las cuales son estructuras hechas de ADN (ADN es el encargado de transmitir la información hereditaria). Estas alteraciones incluyen los Sd. De Turner que se produce por la pérdida total o parcial del segundo cromosoma sexual (X o Y) y se caracteriza por talla baja y disgenesia gonadal (alteraciones en la función de los órganos reproductivos), el Sd. de Klinefelter el cual se presenta al tener uno más cromosomas X en un individuo varón y este ocasiona talla alta, problemas de reproducción, entre otras alteraciones, la polisomía del X (tres o más cromosomas X) en una mujer, que puede generar alteraciones en la fertilidad, problemas de aprendizaje y talla alta y finalmente el Sd. XYY donde individuos masculinos presentan un cromosoma Y extra. Estas alteraciones por lo general no se pueden diagnosticar al nacimiento. El diagnóstico de la mayor

parte de los pacientes se realiza en la vida adulta cuando se presentan con problemas de fertilidad y/o alteraciones en la estatura.

Encontrar a los pacientes de forma tardía retrasa o impide tratar las complicaciones asociadas a estos síndromes en un tiempo oportuno, las cuales puede afectar su calidad de vida. El manejo de estos pacientes es una tarea multidisciplinaria (diferentes médicos especialistas deben atender al paciente), por lo tanto, lo adecuado es detectar estos padecimientos en etapas tempranas, de esta manera, el individuo afectado tendrá una mejor atención, que permita su adecuada integración en la sociedad y un entorno de desarrollo más favorable para él y su familia. En base a este problema se ha buscado diferentes métodos de detección temprana en estos pacientes utilizando pruebas que sean económicas y fáciles de realizar.

4.- ¿PARA QUE SE LLEVA A CABO ESTE ESTUDIO?

El propósito de este estudio es encontrar una alteración numérica en el cromosoma sexual Y (Y) utilizando ciertos genes (segmentos de ADN localizados en los cromosomas sexuales X y Y) que son *SHOX*, *VAMP7* y *SRY* para el diagnóstico temprano de la polisomía del X (tres o más cromosomas X), para la atención oportuna de los casos y mejorar la calidad de vida de los pacientes además permitirá saber con mayor exactitud cuántos casos se presentan en la población del estado de Nuevo León. Los resultados obtenidos serán analizados para saber si esta prueba puede ser incluida en el tamiz neonatal ampliado y así aumentar el número de padecimientos genéticos detectados desde el nacimiento.

5.- ¿CUÁLES SON LOS REQUISITOS PARA PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO?

Para participar en este estudio solo se requiere ser un recién nacido menor de dos semanas y que se autorice por consentimiento firmado su participación.

Quiénes no pueden participar:

Recién nacidos transfundidos.

Imposibilidad de tomar muestras de sangre.

Quiénes se eliminan de este estudio:

Muestra mal tomada.

Rechazo a participar en la evaluación clínica

6.- ¿QUÉ SE ME PEDIRÁ QUE HAGA?

Si usted permite que se analice la muestra de su hijo (a) de manera voluntaria, se le pedirá que responda a unas preguntas de los datos clínicos de su hijo (a) por personal de la consulta de tamiz neonatal y se tomará una muestra de sangre de talón (unas gotas que se absorben en un en papel filtro) utilizando unas lancetas que no generan ningún riesgo a la salud de su hijo (a). Su participación tendrá una duración aproximada de 15 minutos y sólo se pedirá una segunda evaluación en el caso de que los resultados fueran sospechosos de una alteración en el número del cromosoma sexual (X), se realizará un estudio confirmatorio que se llama Cariotipo bandas GTG (el cual permite contar el número de cromosomas y evaluar su forma) de forma gratuita. Este estudio se realiza con una muestra de sangre periférica (3ml) que se toma por punción con aguja de alguna vena superficial del antebrazo, así como una evaluación clínica por un médico especialista en Genética Médica.

7.- ¿QUÉ ME PODRÍA PASAR POR PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO?

La toma de la muestra se realiza a través de la punción de una lanceta sobre el talón del neonato, se pueden presentar molestias menores en el sitio donde se realice la punción como ligero dolor local o la presencia de un hematoma (moretón), eventos que NO ponen en peligro su salud.

9.- ¿QUÉ BENEFICIOS TENGO POR PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO?

En el presente estudio se busca establecer un método sensible, rápido y económico que permita la detección temprana de las pacientes con polisomía del X (tres o más cromosomas sexuales X) con el fin de ofrecer un manejo oportuno a las complicaciones más frecuentes observadas en estos pacientes y en el caso de que sea detectado alguna polisomía del X en el participante se realizará el estudio confirmatorio de forma gratuita.

11.- ¿CÓMO PROTEGERÁ MI PRIVACIDAD?

Los resultados de estas pruebas únicamente se compartirán con la Dra. Laura Martínez Garza, quien es el investigador principal y los colaboradores Dra. Marisol Ibarra Ramírez, Dra. Isabel Moreno Vega, Dr. Luis Daniel Campos Acevedo, M.C Michelle Zamudio Osuna, M.C Viviana Gómez Puente, QCB Rosario Torres, Dra Patricia Arreondo, y el Dr. Ricardo Cerda Flores, utilizando una clave para el número de caso y donde se mantiene la identidad de la muestra protegida sin revelarse a personal que no participe en este estudio.

A cada muestra se le asignará un número de folio el cual permitirá su identificación para el resto del personal del laboratorio, impidiendo su acceso a la identidad de dicha muestra la cual únicamente conocerán los autores de este estudio, la información se almacenará en una base de datos de uso exclusivo del grupo de trabajo y los resultados obtenidos tienen como finalidad publicarse en una tesis y en un artículo de publicación médica y en ningún momento la identidad de los participantes será revelada.

_____ acepto que el ADN obtenido será almacenado en el Laboratorio de Biología Molecular del Departamento de Genética de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario “José E. González” de la U.A.N.L. y podrá ser empleado con motivos de investigación o educación La solicitud de estudios adicionales deben ser realizadas por los responsables de este estudio. Entiendo que tengo el derecho a revocar este consentimiento en cualquier momento. En caso de no aceptar que se utilice el ADN extraído con motivos de investigación en otro estudio de forma anónima, este será eliminado al concluirse este estudio.

12.- ¿TENDRE ALGO QUE PAGAR DURANTE LA INVESTIGACIÓN?

No habrá ningún cargo para el participante por ninguna de las pruebas requeridas y procedimientos realizados en este estudio.

13.- ¿RECIBIRÉ ALGUN PAGO O INCENTIVO POR MI PARTICIPACIÓN?

No recibirá ninguna compensación monetaria ni en especie por participar en este estudio.

14.- ¿QUÉ VA A PASAR SI ME ARREPIENTO DE PARTICIPAR?

Su participación en este estudio es voluntaria. Como participante, usted puede negarse a participar en cualquier momento. Para retirarse del estudio por favor contacte al Dr. Luis Daniel Campos Acevedo en el departamento de Genética el cual se localiza en el 4° piso del Centro Universitario Contra el Cáncer y se puede comunicar a los Tel. (81) 83 48 37 04, (81) 81 23 16 98 de Lunes a Viernes en horarios de 8:00 a 19:00 hrs.

15.- SI TENGO PREGUNTAS, ¿A QUIEN PUEDO LLAMAR O COMUNICARME?

Si usted tiene alguna pregunta acerca de la investigación, por favor hable con el Dr. Luis Daniel Campos Acevedo en el departamento de Genética el cual se localiza en el 4° piso del Centro Universitario Contra el Cáncer o bien se puede comunicar a los Tel. (81) 83 48 37 04, (81) 81 23 16 98 de Lunes a Viernes en horarios de 8:00 a 19:00 hrs o al 044-811 069 71 82 en cualquier horario.

Recuerde que este proyecto ha sido revisado y aprobado por el Comité de Ética y el Comité de Investigación de la Facultad de Medicina y del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la Universidad de Autónoma de Nuevo León.

Se le ha dado la oportunidad de hacer preguntas y éstas han sido contestadas a su satisfacción. Si firma abajo indica que está de acuerdo para participar como voluntario en este estudio de investigación.

PARTE 2: FIRMAS QUE DOCUMENTAN EL ACUERDO

16.- ACUERDO

Su consentimiento para participar en la investigación será voluntario e informado. Si usted está de acuerdo en participar y si sus preguntas han sido contestadas a su entera satisfacción, usted deberá firmar esta forma. Una vez firmada la forma, usted está de acuerdo en participar en este estudio. En caso de que usted se rehúse a participar, usted podrá retirarse sin pérdida de alguno de sus beneficios médicos.

Una vez que usted haya consentido, usted aún tendrá el derecho de retirarse en cualquier momento sin que esto afecte su atención médica. Para retirarse, lo único que usted deberá hacer es informar a su médico de su decisión.

Se le ha proporcionado una copia de esta forma para quedársela y para que haga referencia a ella cuando sea necesario.

Fecha

Firma de la Sujeto

Nombre en letra de molde

Fecha

Firma del Primer Testigo

Nombre en letra de molde

Relación del Primer Testigo con la Sujeto del Estudio Dirección

Fecha

Firma del Segundo Testigo

Nombre en letra de molde

Relación del Primer Testigo con la Sujeto del Estudio Dirección

II. ASEGURAMIENTO DEL INVESTIGADOR O DEL MIEMBRO DEL EQUIPO

He discutido lo anterior con esta persona. A mi más leal saber y entender, el sujeto está proporcionando su consentimiento tanto voluntariamente como de una manera informada, y él/ella posee el derecho legal y la capacidad mental suficiente para otorgar este consentimiento.

Fecha

Firma de la Persona que Obtuvo el

Nombre en letra de molde

Consentimiento/Investigador Principal

9.2 Hoja de recolección de datos

Cuestionario para datos clínicos



PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN:

“DETECCIÓN TEMPRANA DE LAS ANEUPLOIDÍAS DE CROMOSOMAS
SEXUALES A TRAVÉS DE LA CUANTIFICACIÓN DE LA DOSIS GÉNICA POR
qPCR EN MUESTRAS DE SANGRE EN PAPEL FILTRO PARA TAMIZ
Hospital: _____
NEONATAL AMPLIADO”.

Datos clínicos del participante

Fecha: _____ No. De identificación: _____

Nombre: _____

Edad: _____ Fecha de nacimiento _____

Sexo: F M

Domicilio actual y tel: _____

Lugar de origen: _____

G____P____C____A____

ANTECEDENTES PRE Y PERINATALES:

Control prenatal: _____

Amenaza de aborto y/o parto prematuro (edad gestacional y síntomas):

Enfermedades durante el embarazo:

Diabetes Mellitus _____ Epilepsia _____

Hipertensión_____ Infecciones con fiebre_____

Patología Genética _____ OTRA_____

Exposición a agentes teratógenos:

Alcohol_____ Tabaco_____

Drogas (alcohol, marihuana, cocaína) _____

Biológicos _____

Medicamentos _____

Pruebas de diagnóstico prenatal (semana de gestación y hallazgo):

Ultrasonido_____

Duración de la gestación:_____Tipo de parto:_____

Complicaciones_____

ANTECEDENTES NEONATALES:

APGAR: _____ Peso: _____ Talla: _____ PC: _____

¿Requirió manejo neonatal? ¿Por qué?

Enfermedades congénitas: _____

Transfusiones: _____

***Transfusiones positivas es criterio de exclusión para este estudio.**

Responsable de obtención de datos:

Departamento de Genética, Facultad de Medicina U.A.N.L.

Protocolo: *“Detección temprana de las aneuploidías de cromosomas sexuales a través de la cuantificación de la dosis génica por qPCR en muestras de sangre en papel filtro para tamiz neonata ampliado”*.

Aprobación por Subdirección de Investigación de Investigación de la Facultad de Medicina U.A.N.L. y comité de Ética con número de registro: GN15-007

10.3 Carta de Aprobación Comité de Ética en Investigación



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO

DR. LUIS DANIEL CAMPOS ACEVEDO

Investigador Principal

Departamento de Genética

Presente.-

Estimado Dr. Campos:

Le informo que el Comité de Ética en Investigación de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario de la Universidad Autónoma de Nuevo León, ha **evaluado y aprobado** el protocolo de investigación titulado **“Detección temprana de Síndrome de XYY mediante la cuantificación de la dosis génica de SHOX, VAMP7 y SRY por q-PCR en muestras de sangre de papel filtro”** el cual quedó registrado en esta Subdirección con la clave **GN15-007** participando además la Dra. Iris Gisell Tirado Torres, Dra. Marisol Ibarra Ramírez, QFB José Lugo Trampe, MC Viviana Maricela Gómez Puente y la Dra. Laura Elia Martínez de Villarreal, MC Michelle Zamudio Osuna como Co-investigadores.

- Protocolo en extenso, versión 1.0 de fecha 24 de agosto del 2015.
- Consentimiento Informado, versión 03 de fecha 24 de agosto del 2015.

Le pedimos mantenernos informados del avance o terminación de su proyecto.

Sin más por el momento, me despido de usted.

Atentamente,

“Alere Flammam Veritatis”

Monterrey, Nuevo León 04 de Septiembre del 2015

DR. JOSÉ GERARDO GARZA LEAL

Secretario de Investigación Clínica

Presidente del Comité de Ética en Investigación

SUBDIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN



COMITÉ DE ÉTICA
COMITÉ DE INVESTIGACIÓN

Comité de Ética en Investigación

Comité de Investigación

Av. Francisco I. Madero Pte. s/n y Av. Gonzalitos, Col. Mitras Centro, 64460 Monterrey, N.L., México Apartado Postal 1-4469

Teléfonos: (+52) 8329 4050 Ext. 2870 al 2874. Correo Electrónico: investigacionclinica@meduanel.com



September 15, 2014

CAPÍTULO X

10. BIBLIOGRAFÍA

Allanson JE, Cunniff C, Hoyme HE, McGaughran J, Muenke M, Neri G. Elements of morphology: Standard terminology for the head and face. *A J Med Genet A*. 2009; 149A(1): 6–28.

Bardsley, MZ, et al. 47,XYX Syndrome: Clinical Phenotype and Timing of Ascertainment, *Pediatr* 2013;163:1085-94

Bishop, D. V., Jacobs, P. A., Lachlan, K., Wellesley, D., Barnicoat, A., Boyd, P. A., et al. (2010). Autism, language and communication in children with sex chromosome trisomies. *Archives of Disease in Childhood*, 96(10), 954–959.

Campos Acevedo LD, Ibarra Ramírez M, Lugo Trampe JJ, Zamudio Osuna M, Torres Muñoz I, Velasco Campos MR, et al. Dosage of Sex Chromosomal Genes in Blood Deposited on Filter Paper for Neonatal Screening of Sex Chromosome Aneuploidy. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2016; 20(12):1-5.

Christensen AL, Nielsen J. Psychological studies of ten patients with the XYY syndrome. *Br J Psychiatry* 1973;123:219-21.

Christos K., Loffeld A. Childhood acne in a boy with XYY syndrome. *BMJ Case Rep* 2014. doi:10.1136/bcr-2013-201587

Cordeiro L, Tartaglia N, Roeltgen D, Ross J. Social deficits in male children and adolescents with sex chromosome aneuploidy: A comparison of XXY, XYY and XYYX syndromes. *Research in Developmental Disabilities* 33 (2012) 1254–1263.

Deborah A, Driscoll MD, Gross S. Prenatal Screening for Aneuploidy. N Engl J Med.2009; 360: 2556-2562.

Edgar Chan Wong, Kyle A. Ferguson, Victor Chow and Sai Ma. Sperm aneuploidy and meiotic sex chromosome configurations in an infertile XYY male. Human Reproduction Vol.23, No.2 pp. 374–378, 2008

Geerts, M., Steyaert, J., & Fryns, J. P. (2003). The XYY syndrome: A follow-up study on 38 boys. Genetic Counseling, 14(3), 267–279.

Giedd JN, Clasen L, Wallace G, Lenroot RK, Lerch JP, Wells EM, Blumenthal JD, Nelson JE, Tossell JW, Stayer C, Evans AC, Samango-Sprouse CA. 2007. XXY (Klinefelter syndrome): A pediatric quantitative brain magnetic resonance imaging case–control study. Pediatrics 119:e232–e240.

Hall JG, Allanson JE, Gripp K, Slavotinek A. Handbook of Physical Measurements. New York, NY: Oxford University Press. 2007; 520 p.

Ibarra-Ramírez M, Zamudio-Osuna MJ, Campos-Acevedo LD, Gallardo-Blanco HL, Cerda-Flores RM, Rodríguez-Sánchez IP, et al. Detection of Turner syndrome by quantitative PCR of SHOX and VAMP7 genes. Genet Test Mol Biomarkers.2015; 19(2): 88–92.

Klinefelter HF, Reifenstein EC, Albright F. Syndrome characterized by gynecomastia, aspermatogenesis without A-Leydigism, and increased excretion of follicle-stimulating hormone. J Clin Endocrinol, 1942

Lee NR, Wallace GL, Adeyemi EI, Lopez KC, Blumenthal JD, Clasen LS, Giedd JN. Dosage effects of X and Y chromosomes on language and social functioning in children

with supernumerary sex chromosome aneuploidies: implications for idiopathic language impairment and autism spectrum disorders. *Journal of Child Psychology and Psychiatry* 53:10 (2012), pp 1072–1081.

Linden MG, Bender BG, Robinson A. Intrauterine diagnosis of sex chromosome aneuploidy. *Obstet Gynecol* 1996;87:468–475.

Longui CA, Rocha MN, Albuquerque Perez Martinho LC, Gomes GG, de Miranda RE, Lima TA, et al. Molecular detection of XO-Turner syndrome. *Genet Mol Res.* 2002. 1(3): 266-270.

Lubs HA, Ruddle FH. Chromosomal abnormalities in the human population: estimation of rates based on New Haven newborn study. *Science*.1970; 169(3944): 495–497.

Mary G. Linden and Bruce G. Bender. Fifty-One Prenatally Diagnosed Children and Adolescents With Sex Chromosome Abnormalities. *American Journal of Medical Genetics* 110:11–18 (2002).

Massa G, Verlinde F, De Shepper J, Thomas M, Bourguignon JP, Craen M, et al. Trends in age at diagnosis of Turner syndrome. *Arch Dis Child.* 2005; 90(3): 267-268.

Milazzo JP, Rives N, Mousset-Simeon N, Mace B. Chromosome constitution and apoptosis of immature germ cells present in sperm of two 47,XYY infertile males. *Hum Reprod* 2006;21:1749–1758.

Nagy B , Nagy RG, Lazar L, Schonleber J, Papp C, Rigo Jr. Detection of sex chromosome aneuploidies using quantitative fluorescent PCR in the Hungarian population, *Clinica Chimica Acta* 445 (2015) 2–6

Nicolson R, Bhalerao S, Sloman L. 47,XXY Karyotypes and Pervasive Developmental Disorders. *Can J Psychiatry* 1998;43:619-622.

Nielsen J, Pelsen B. Follow-up 20 years later of 34 Klinefelter males with karyotype 47,XXY and 16 hypogonadal males with karyotype 46,XY. *Hum Genet*, 1987

Nielsen J, Wohler M. Sex chromosome abnormalities found among 34,910 newborn children: results from a 13-years incidence study in Arhus, Denmark. *Birth Defects Orig Artic Ser.*1990; 26(4): 209-223.

Ottesen, A., Aksglaede, L., Garn, I., Tartaglia, N., Tassone, F., Gravholt, C., et al. (2010). Increased number of sex chromosomes affects height in a non-linear fashion. *American Journal of Medical Genetics A*, 152A(5), 1206–1212.

Rives N, Simeon N, Milazzo JP, Barthelemy C, Mace B. Meiotic segregation of sex chromosomes in mosaic and non-mosaic XYY males: case reports and review of the literature. *Int J Androl* 2003;26:242–249.

Roeder GS, Bailis JM. The pachytene checkpoint. *Trends Genet* 2000;16:395–403

Ross JL, Zeger M, Kushner H, Zinn AR, Roeltgen DP. An Extra X Or Y Chromosome: Contrasting The Cognitive And Motor Phenotypes In Childhood In Boys With 47,XYY Syndrome Or 47,XXY Klinefelter Syndrome. *Developmental Disabilities Research Reviews* 15: 309 – 317 (2009)

Schiavi RC, Theilgaard A, Owen DR, White D. Sex chromosome anomalies, hormones, and aggressivity. *Arch Gen Psychiatry* 1984;41:93-9.

Shen D, Liu D, Liu H, Clasen L, Giedd J, Davatzikos C (2004) Automated morphometric study of brain variation in XXY males. *Neuroimage* 23:648–653.

Skakkebaek NE, Hulten M, Jacobsen P, et al. Quantification of human seminiferous epithelium II. Histological studies in eight 47, XYY men. *J Reprod Fert* 1973;32:391–401.

Tartaglia NR, Wilson R, Miller JS, Rafalko J. Autism Spectrum Disorder in Males with Sex Chromosome Aneuploidy: XXY/Klinefelter Syndrome, XYY, and XXYY. *J Dev Behav Pediatr* 38:197–207, 2017.

Visootsak J, Graham JM: Social function in multiple X and Y chromosome disorders: XXY, XYY, XXYY, XXXY. *Develop Dis Research Rev* 2009, 15:328–332.

CAPÍTULO XI

11. RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

Iris Gisell Tirado Torres

Candidato para el Grado de Especialista en Genética Médica

Tesis: “DETECCIÓN TEMPRANA DEL SÍNDROME DE XYY MEDIANTE LA CUANTIFICACIÓN DE LA DOSIS GÉNICA DE *SHOX*, *VAMP7* Y *SRY* POR QPCR EN MUESTRAS DE SANGRE EN PAPEL FILTRO”

Campo de Estudio: Ciencias de la Salud

Datos Personales: Nacida en Ciudad de México, México el día 25 de julio de 1989. Hija de Georgina J. Torres Velázquez, actualmente residente de Monterrey, Nuevo León.

Educación: Egresada de la Universidad Nacional Autónoma de México con el grado de Médico Cirujano en 2013.

Experiencia Profesional: Residente de Genética Médica del Hospital Universitario “José Eleuterio González” de la Universidad Autónoma de Nuevo León, desde marzo de 2015 hasta febrero de 2018.